

18 B 623
(30 B 222)

特 許 公 報

特許出願公告
昭43-25506
公告 昭43. 11. 4
(全4頁)

リボフラビン脂肪酸オリゴエステルの製法

特 願 昭 40-56913
出 願 日 昭 40. 9. 16
発 明 者 山辺茂
豊中市曾根東町1の36
同 寺山宏
東京都世田谷区玉川瀬田町156
出 願 人 住友化学工業株式会社
大阪市東区北浜5の15
代 表 者 長谷川周重
代 理 人 弁理士 沢浦雪男

図面の簡単な説明

第1図はリボフラビンの赤外線吸収スペクトルを表わし、第1図bは実施例1のリボフラビンラウリン酸トリエステルの赤外線吸収スペクトルを表わす。第2図は実施例2のリボフラビンイソ吉草酸トリエステルの赤外線吸収スペクトルを表わしたものである。

発明の詳細な説明

本発明は水溶性のビタミンB₂すなわちリボフラビンのリビチル基に1乃至3個の脂肪酸をエステル結合により導入し、それを脂溶性の高いビタミンに变化させる製法に関する。このエステルはバター、オリーブ油等の油脂に溶けたり、あるいは白米にコーティングしたりして強化食品にでき、また化粧用クリームに添加して皮膚からの浸透性を高める等の特色を有する。かかる目的をもつてエステル結合される脂肪酸は炭素原子数3以上の脂肪酸で、側鎖を有する脂肪酸も含まれ、例えば酪酸、イソ吉草酸、ラウリン酸、ステアリン酸、オレイン酸、パルミチン酸等があげられる。

本製法は相当する脂肪酸のハロゲン化物、特にクロライドをリボフラビン1モルに対して3モル以下の割合で縮合するように使用すること、アルカリ水溶液を反応媒体とすること、および生成したエステルをカラムクロマトグラフィーまたは遠心分離法によつて分離精製することとを特徴とする。アルカリ性水溶液を使用する有利な点は従来法に比し反応条件を適当に選定することによつて、モノエステル・ジエステル・トリエステルの中の任

意の分画が高い収率(80乃至90%)でえられるにある。これらのオリゴエステルはテトラエステルに比して、充分に親脂性であると共にリボフラビン含量の高いこと、リパーゼで加水分解され活性リボフラビンを生じ易いこと等から実用上特

にすぐれている。すなわち具体的には、リボフラビンラウリン酸モノエステル、ジエステル、トリエステルを基質とし、酵素として、パンクレアスリパーゼを用い、pH 7.0のリン酸塩系緩衝液を用いて、37℃で90分間加水分解反応を行つたところ下表のような結果が得られ、そのすぐれた実用性が立証された。

基 質	加水分解速度 (%)	ビタミンB ₂ 養 養効果(ラット 発育)
リボフラビンラ ウリン酸モノエ ステル	45	+++
リボフラビンラ ウリン酸ジエス テル	30	+++
リボフラビンラ ウリン酸トリエ ステル	27	+++
		コントロール +++

(ラットを2週間完全飼育)

なお、元素分析、可視部吸収スペクトル、赤外線吸収スペクトル等を測定し、本発明生成物が相当する脂肪酸のオリゴエステル中の一分画であることを確認した。

次に実施例を示し本発明をさらに詳細に説明する。

実施例 1

リボフラビンの粉末3.76g(0.01モル)を適当量の水に懸濁させ、氷冷下でよく攪拌しつつ、これに8.5% KOH(またはNaOH) 7.3g(0.11モル)/15ml水およびラウリン酸クロライド21.8g(0.1モル)を等量ずつつ

BEST AVAILABLE COPY

(2)

特公 昭43-25506

くろ滴下する。

30分乃至60分かけて全部を滴下し、さらに30分間攪拌をつづける。反応終了後、いつたん濾別または遠心分離して黄色固形物を集め、ついでクロロホルム、トルエン等の非極性溶媒で抽出する。場合によつては、いつたん固形物を分離しないで、直ちに溶媒で抽出してもよい。

有機溶媒を重碳酸ナトリウム水、ついで水で分液コート中で振り、よく洗つてから溶媒を減圧下で留去すれば、油状または固形のリボフラビンラウリン酸エステルが得られる。収量は90%である。

これをさらに精製するには、石油エーテルまたは石油ベンジンに溶かして、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行い、石油エーテル+エーテル(1:1の分量比)またはエーテルの分量を大きくした溶媒で導出する。溶媒を減圧下で留去すれば橙黄色結晶を得る。

本品は室温で極めて安定であり、水に不溶、各種の有機溶媒および油脂によく溶けて黄緑色のクイ光を示す。本品の融点および元素分析値は第1表の通りである。元素分析値から本品はリボフラビン1分子に対してラウリン酸3分子を含むトリエステルであることがわかる。

第 1 表

化 合 物	融 点	元 素 分 析 値 (%)			
			C	H	N
リボフラビン	288.5~	理論値	54.26	5.32	14.89
	292.5℃	実測値	54.58	5.21	14.75
リボフラビンラウリン酸 トリエステル	127.5~	理論値	68.98	9.33	6.07
	144.5℃	実測値	67.33	9.18	6.03

本品のオリーブ油中における可視部吸収スペクトルはリボフラビンの水溶液のものと相似するが、その吸収極大は440mμにあつて、リボフラビンの値445mμより少しく短波長に位する。また本品の赤外線吸収スペクトル(KBr錠剤法)は第1図(b)の通りである。第1図(a)のリボフラビンのスペクトルと比較して、いわゆる指紋領域の各吸収帯が極めて相似していることから、エステル結合によつてイソアロキサチン核の保存されることがわかる。また(b)にのみ認められる3.5μの吸収帯はパラフィン鎖によるものであり、脂肪酸が導入されていることを明示している。

実施例 2

リボフラビン2.8gを50mlの水に懸濁させ、氷冷下で攪拌しながらイソ吉草酸クロライド12.1gとKOH 6.1g/15ml水を少量ずつ滴下する。反応終了後、トルエンで抽出し、このトルエン層を水でよく洗つてから40℃以下でトルエンを減圧留去する。残留物の油状体を石油ベンジンに溶かし、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行う。以下実施例1と同じようにして導出液から溶媒を蒸発させると、赤橙色の油状リボフラビンエステル1.2gを得る。

第2表に示す本品の元素分析値より、リボフラビン1分子に対してイソ吉草酸3分子が結合したトリエステルであることがわかる。

第 2 表

化 合 物	元 素 分 析 値 (%)			
		C	H	N
リボフラビンイソ吉草 酸トリエステル	理論値	61.15	7.01	8.92
	実測値	59.81	7.15	7.91

BEST AVAILABLE COPY

(3)

特公 昭43-25506

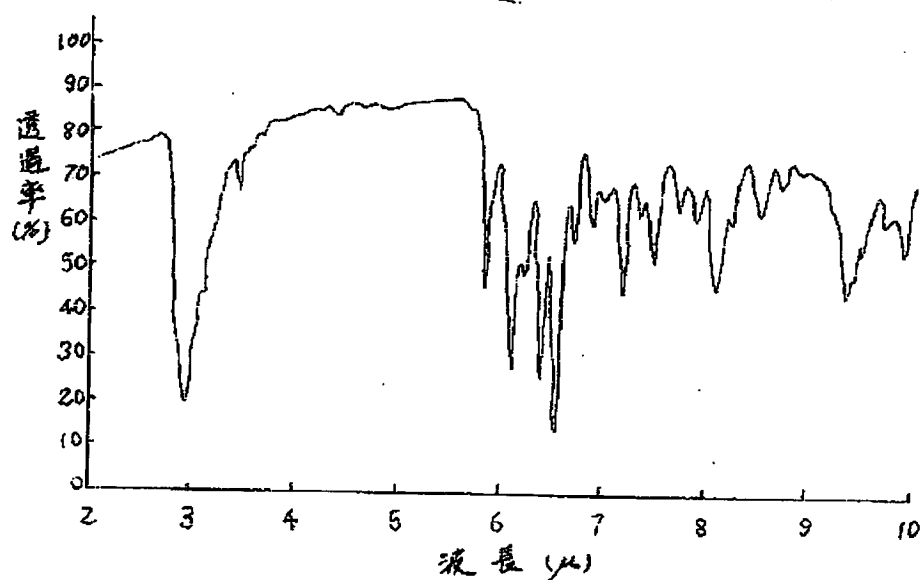
なお本品の赤外線吸収スペクトル(溶媒パラフィン油)を示せば第2図の通りである。

特許請求の範囲

1 直鎖状または側鎖を有する炭素原子数3以上の脂肪酸のハロゲン化物を、リボフラビンとアル

カリ性水溶液で反応させ、リボフラビンのリビチル基をモノエステル、ジエステルまたはトリエステル化することを特徴とするリボフラビン脂肪酸オリゴエステルの製造法。

第2図(a) リボフラビン

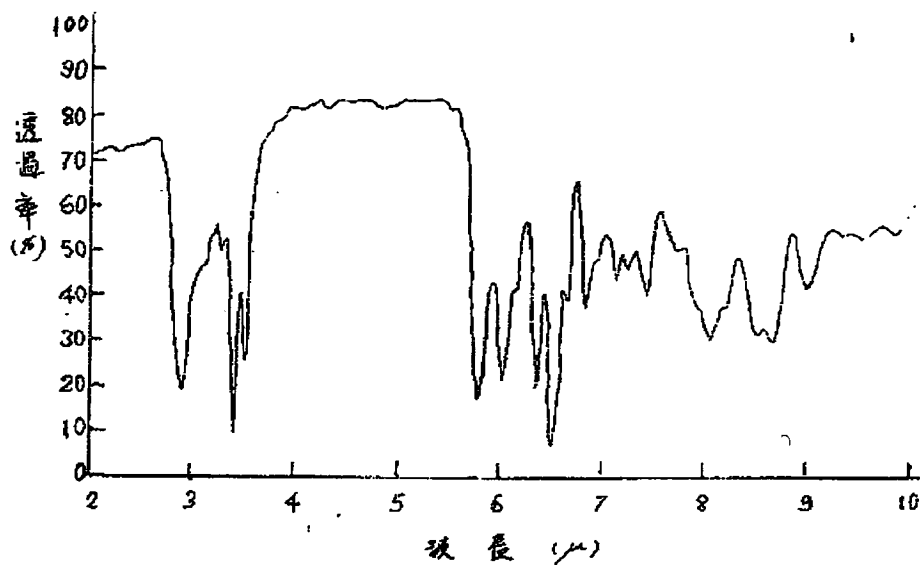


BEST AVAILABLE COPY

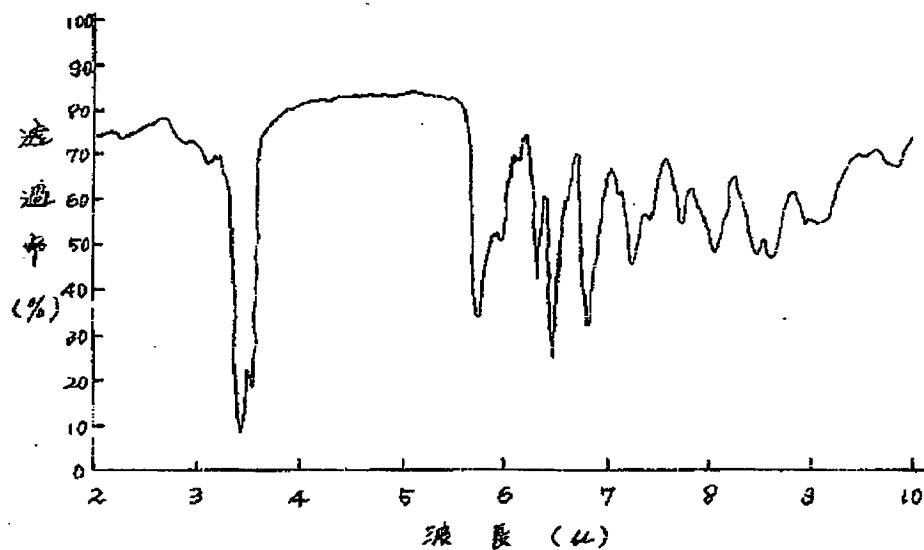
(4)

特公 昭 43-25506

第 1 図 (b) リボフラビンラウリン酸トリエステル



第 2 図 リボフラビンイソ吉草酸トリエステル



BEST AVAILABLE COPY

was prepd. in 65% yield by reacting the Grignard reagent of tetra-*O*-acetyl- α -D-glucopyranosyl chloride with Me_2SiCl_2 (Edwin L. DeYoung).

58222k Magnamycin. Weiler, Lawrence S. (Harvard Univ., Cambridge, Mass.). 1968, 143 pp. (Eng.). Avail. Univ. Microfilms, Ann Arbor, Mich. Order No. 68-15,701. From *Diss. Abstr. B* 1968, 29(5), 1616.

58223m Ristomycins A and B. Structure of the carbohydrate moiety of the molecules. Lomakina, N. N.; Murav'eva, L. I.; Pushkash, M. (Nauch.-Issled. Inst. Izyskaniya Nov. Antibiot., Moscow, USSR). *Antibiotiki* 1968, 13(10), 867-71 (Russ.). Ristomycin A (I) and B (II) were subjected to mild hydrolysis in dil. HCl at 100° and the carbohydrates were analyzed in the system 3:7:3:2 BuOH-EtOAc-AcOH-H₂O by paper chromatog. I contains 33% carbohydrates and the structure was detd. as mannose-aglycon-glucose(rhamnose)-mannose-arabinose. II contains 24% carbohydrates and the structure is mannose-aglycon-glucose-rhamnose. Aglycons of both I and II have a mol. wt. approx. 1500, identical uv spectra, the same elemental compn., biol. activity, cannot be sepd. in 5 different systems by paper chromatog., and are apparently identical.

58224n Nepitrin, a new flavone glucoside from *Nepeta hindostana* and revision of the structure of pedalin. Krishnaswamy, N. R.; Seshadri, Tiruvankata R.; Tahir, P. J. (Univ. Delhi, Delhi, India). *Indian J. Chem.* 1968, 6(11), 676-7 (Eng.). A new flavone glucoside, nepitrin (I), $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_8$, H_2O , m. 254-6° (EtOH) was isolated from alc. ext. of air-dry whole plant of *N. hindostana*. I formed a heptaacetate, m. 138-40°. Hydrolysis with 7% H_2SO_4 or emulsion yielded 1 mole each of glucose and an aglucon, $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$, named nepetin (II), m. 202-4°, which formed a tetraacetate, m. 170-1°, and a tetramethyl ether, m. 175-7°. II did not give the gossypetone reaction (absence of 5,8-hydroxyls) or Bargellini test (absence of 5,6-hydroxyls). Demethylation of II with HI yielded 3',4',5,6,7-pentahydroxyflavone, identical with an authentic sample (Murti and Seshadri, 1948). The tetramethyl ether of II was also identical with an authentic sample of 3',4',5,6,7-pentamethoxyflavone (Murti and Seshadri). These observations indicated that II could be 3',4',5,7-tetrahydroxy-6-methoxyflavone. This structure, supported by its uv absorption spectrum (along with shifts with NaOAc and AlCl_3) was confirmed as follows: Complete ethylation of II gave the tetraethyl ether, m. 145-7°, which was identical with an authentic sample of 3',4',5,7-tetraethoxy-6-methoxyflavone (III) prepd. as follows: Condensation of 4,6-diethoxy-2-hydroxy-5-methoxyacetophenone with 3,4-diethoxybenzaldehyde gave 2'-hydroxy-3,4,4',6'-tetraethoxy-5'-methoxy-chalcone, m. 120-2°, which on SeO_2 dehydrogenation afforded III. The 7- β -D-glucoside structure of 3',4',5,7-tetrahydroxy-6-methoxyflavone for I, indicated by uv absorption spectra (along with shifts with NaOAc/ H_3BO_3) of I and II, was confirmed by the N.M.R. spectra of its heptaacetate. This structure of I and II had earlier been assigned to pedalin (IV) and pedalin (V), resp. (Morita, 1960). In view of the gross differences between IV and I and their corresponding aglycons (V and II resp.) (non-identity confirmed by direct comparison with authentic samples), the structure of IV was reexamd. and has now been shown to be the 6-D-glucoside of 6-hydroxyluteolin 7-(methyl ether). Taking into consideration the available data (Morita, *loc cit.*) and the present observation on the structure of II, it appeared that V could be 3',4',5,6-tetrahydroxy-7-methoxyflavone, which was indicated by the study of the uv spectral shifts of IV and V (along with shifts with various reagents) and confirmed by synthesis. The position of the sugar group in IV was established as follows: The complete Me ether of IV was hydrolyzed to yield a compd., m. 220-2°, which on ethylation yielded a product, m. 167-9°, identical with 6-ethoxy-3',4',5,7-tetramethoxyflavone, proving that D-glucose in IV must be attached to the 6-hydroxyl.

58225p Constituents of chrysosplenium plants in Japan. Structure of chrysosplenin. Shimizu, Mineo; Morita, Naokata (Fac. Pharm., Univ. Toyama, Toyama, Japan). *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* 1968, 16(11), 2310-11 (Eng.). The *Chrysosplenium japonicum* plant was extd. with MeOH to give a crystalline material which was identified as chrysosplenin (I) from its spectrum. Paper partition chromatog. revealed that I was a mixt. of 2 components, 1 of which was identified as the chrysosplenoside-B, 5,4'-dihydroxy-3,6,7,3'-tetramethoxyflavone 4'-monoglucoside. The 2nd component gave a D-glucose and aglycon on hydrolysis with H_2SO_4 . The aglycon was identified as the 5,3',4'-trihydroxy-3,6,7-trimethoxyflavone (II) and called chrysosplenol-D, and the 2nd component in the I mixt. was the 3' or 4'-mono-D-glucoside of II which was called chrysosplenoside-D.

58226q Riboflavine esters. Yamabe, Shigeru; Terayama, Hiroshi (Sumitomo Chemical Co., Ltd.). Japan. 68 254506 (Cl. 16 E 623), 04 Nov 1968, Appl. 16 Sep 1965, 4 pp. Lauric chloride (21.8 g.) and 15 ml. aq. soln. contg. 7.3 g. KOH are

gradually dropped into an ice-cooled and stirring suspension of 3.76 g. riboflavine in H_2O during 30-60 min., the mixt. stirred an addnl. 30 min., centrifuged, the resulting mass extd. with such nonpolar solvents as CHCl_3 or PhMe, the ext. evapd., the residue dissolved in petroleum ether (petroleum benzene), the soln. chromatographed on SiO_2 and eluted with petroleum ether-Et₂O to give riboflavine trisvalerate, m. 127.5-44.5°.

58227r Polyfunctional 1,6-anhydro- β -D-glucopyranose (levoglucosan) ethers. Carlberg, Lawrence G.; Shahzadeh, Fraidoun (Weyerhaeuser Co.). U.S. 3,414,560 (Cl. 260-209), 03 Dec 1968, Appl. 08 Dec 1966; 2 pp. 1,6-Anhydro- β -D-glucopyranose (levoglucosan) (I) was treated with an allyl halide to give its triallyl ether (II), which can be epoxidized with a carboxylic peracid to give 1,6-anhydro-tri-O-glycidyl- β -D-glucopyranose (III). III gives superior properties to the cured epoxy polymer due to crosslinking with the 3 epoxy groups. III can be used in a coating and cured by adding a polyamine. Thus, a soln. contg. 32.4 g. I was dissolved in 66.2 g. 50% NaOH soln. and 100 g. $\text{CH}_2=\text{CHCH}_2\text{Br}$ was added at 70°. The mixt. was heated for 3 hrs. at 80°, cooled, and 100 ml. water added. The org. layer was sepd., steam distd. and the residue dissolved in MeCOEt. This soln. was water washed, dried, filtered, concd., dissolved in Me_2CO , dried and concd. to give 56% II. II (8.5 g.) was mixed with 20 g. 85% m-chloroperbenzoic acid in 250 ml. CHCl_3 and epoxidized ~65 hrs. under refrigeration to give III contg. 8.23 meq. epoxy/g. sample.

58228s Spiramycin monoesters. Uzu, Keizo; Takahira, Hiroshi; Kato, Hiromasa; Sugiyama, Isatoshi; Haneda, Tomotsune; Ishii, Sumihiro (Kyowa Fermentation Industry Co., Ltd.). Japan. 68 16,748 (Cl. 16 E 518), 15 Jul 1968, Appl. 02 Mar 1965; 4 pp. Spiramycin complex (2 g.) is let stand at 40° 1-2 days in a mixt. of 4 cc. Ac_2O and 0.1 cc. pyridine, the mixt. poured into 100 g. H_2O , the whole adjusted to pH 7 with NaOH, the ppt. dissolved in 10 cc. 80% MeOH, the soln. let stand at 60° for 1 day, and extd. with 20 cc. CHCl_3 to give 0.8 g. spiramycin monoacetate, m. 117-20°. Similarly prepd. is spiramycin monopropionate, m. 112-15°. The resulting monoesters exhibit stronger therapeutic activity than the original spiramycin.

58229t D-Gluconic acids. Ide, Junji; Hoshi, Yoshiaki; Ando, Sohachi (Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.). Japan. 68 08,090 (Cl. 16 B 661), 28 Mar 1968, Appl. 08 Apr 1965; 2 pp. Prepn. of the title compds., metabolic activators, from D-glucono-1,4-lactone (I) or D-glucono-1,5-lactone (II) and aliphatic diaminomonocarboxylic acids such as β -aminoalanine, Orn-Lys, or hydroxylysine are involved. Thus, 9.5 g. II in 200 ml. MeOH and 6.5 g. L-Ornithine (III) (freed from the HCl-salt on Amberlite IR-120) in 100 ml. MeOH were refluxed 1 hr. and kept overnight at room temp. to give 12 g. D-gluconyl-L-ornithine (IV), m. 211-12° (decompn.) (H_2O -MeOH), $[\alpha]_D^{25}$ 30.5 (c 0.69, H_2O). Similarly, 13 g. IV was obtained from 10 g. I and 6.5 g. III in 300 ml. EtOH with 2 hrs. reflux. A soln. of 10 g. II and 7.5 g. L-Lysine V in 310 ml. MeOH was refluxed 1 hr., kept overnight in the cold, and the ppt. filtered off to give 13.1 g. D-gluconyl-L-lysine (VI), m. 204-6° (decompn.) (H_2O -MeOH), $[\alpha]_D^{25}$ 23.6 (c 0.89, H_2O). Similarly, 11.5 g. VI was obtained from 10 g. I and 7.5 g. V suspended in 300 ml. Me₂CO with 3 hrs. reflux.

58230m Isolation of D-ribonic acid. Shirokura, Fusao; Kanazaki, Kenzo; Seko, Hiroyasu; Yamashita, Tsutomu (Tanabe Seiyaku Co., Ltd.). Japan. 68 19,287 (Cl. 16 B 661), 21 Aug 1968, Appl. 18 Oct 1966; 2 pp. D-Ribonic acid (I) can be isolated from a soln. contg. I and D-arabonic acid (II) by forming a Zn salt with addn. of Zn^{2+} . In an example, 800 g. Ca salt of I was isomerized as usual. The reaction mixt. was cooled, and filtered to remove 472 g. unreacted Ca salt of II. To the filtrate was added 225 g. $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, and CaSO_4 was removed by filtration with heating. The filtrate was concd. to 600 g. in vacuo cooled with addn. of 300 g. MeOH to give 210 g. crude Zn salt of I, which was dissolved in 400 cc. H_2O at 80° giving 192 g. colorless plate cryst. Zn salt of I, decomp. at 200°. Y. Tsuji

58231n Adenosines and adenines. Suzuki, Katsumi; Kashihiro, Izumi (Ajinomoto Co., Inc.). Brit. 1,134,974 (Cl. C 07d), 27 Nov 1968, Japan. Appl. 18 Jun 1966; 11 pp. TI I (R = CN) are treated with mixts. of amines and ortho ester to give adenosines II; the III, where R is an alkyl and I is H or an alkyl group, are treated with amines to give adenine IV. Thus, a mixt. of 1.4 g. I (R = CN, $(\text{R}^1\text{R}^2 =)\text{CMe}_2$, I = H) (V) and 8.2 ml. HC(OEt)₃ is treated with 30 ml. EtO satd. with NH_3 gas; the mixt. is heated in a sealed tube 6 hr. at 150° and worked up to give 69% 2',3'-O-isopropylideneadenine (VI), m. 217-18°. Similarly prepd. are the following: $(\text{R}^1 = \text{H})$ ($\text{R}^2 = \text{R}^3 = \text{R}^4 = \text{Me}$), $(\text{R}^1 = \text{H})$ ($\text{R}^2 = \text{H}$), $(\text{R}^1 = \text{H})$ ($\text{R}^2 = \text{Me}$), $(\text{R}^1 = \text{Me})$ ($\text{R}^2 = \text{H}$), $(\text{R}^1 = \text{Me})$ ($\text{R}^2 = \text{Me}$), $(\text{R}^1 = \text{H})$ ($\text{R}^2 = \text{H}$) ($\text{R}^3 = \text{H}$) ($\text{R}^4 = \text{Me}$), $(\text{R}^1 = \text{H})$ ($\text{R}^2 = \text{H}$) ($\text{R}^3 = \text{H}$) ($\text{R}^4 = \text{Me}$), $(\text{R}^1 = \text{H})$ ($\text{R}^2 = \text{H}$) ($\text{R}^3 = \text{Me}$) ($\text{R}^4 = \text{H}$), $(\text{R}^1 = \text{H})$ ($\text{R}^2 = \text{H}$) ($\text{R}^3 = \text{Me}$) ($\text{R}^4 = \text{Me}$), $(\text{R}^1 = \text{Me})$ ($\text{R}^2 = \text{H}$) ($\text{R}^3 = \text{H}$) ($\text{R}^4 = \text{H}$), $(\text{R}^1 = \text{Me})$ ($\text{R}^2 = \text{H}$) ($\text{R}^3 = \text{H}$) ($\text{R}^4 = \text{Me}$), $(\text{R}^1 = \text{Me})$ ($\text{R}^2 = \text{H}$) ($\text{R}^3 = \text{Me}$) ($\text{R}^4 = \text{H}$), $(\text{R}^1 = \text{Me})$ ($\text{R}^2 = \text{H}$) ($\text{R}^3 = \text{Me}$) ($\text{R}^4 = \text{Me}$), $(\text{R}^1 = \text{Me})$ ($\text{R}^2 = \text{Me}$) ($\text{R}^3 = \text{H}$) ($\text{R}^4 = \text{H}$), $(\text{R}^1 = \text{Me})$ ($\text{R}^2 = \text{Me}$) ($\text{R}^3 = \text{H}$) ($\text{R}^4 = \text{Me}$), $(\text{R}^1 = \text{Me})$ ($\text{R}^2 = \text{Me}$) ($\text{R}^3 = \text{Me}$) ($\text{R}^4 = \text{H}$), $(\text{R}^1 = \text{Me})$ ($\text{R}^2 = \text{Me}$) ($\text{R}^3 = \text{Me}$) ($\text{R}^4 = \text{Me}$).